

表 3. 精製飼料を用いて求めたミネラル要求量(稚魚期)

種類	ブリ	マダイ	ニジマス	ウナギ	コイ
Ca (g/kg)	R	NR	NR	2.7	NR
P (g/kg)	6.7	6.8	7-8	5.8	6-7
Mg (g/kg)	R	R	0.5-0.7	0.4-0.7	0.4-0.5
Fe (mg/kg)	60-160	150	60	170	150
Zn (mg/kg)	20	R	15-30	R	15-30
Mn (mg/kg)	R	R	13	R	13-15
Cu (mg/kg)	ND	ND	3	R	3
Co (mg/kg)	ND	ND	0.05	R	3
Se (mg/kg)	ND	ND	0.2-0.4	0.3-0.5	R
I (mg/kg)	ND	ND	0.6-0.8	R	ND

R:要求する, N:飼料への添加の必要性を認めず, ND:未検討.

4. 健苗育成技術開発の成果報告

4.1 ワムシの栄養強化におよぼすワムシ増殖フェーズの影響

～ワムシの培養方法で栄養強化の効率は変わるのか？～

小谷知也・源河輝久・伏見浩（福山大学生命工）・林雅弘（宮崎大）

海産魚介類の種苗生産では海産ツボワムシ類（以下ワムシ）が餌料生物として使われている。このワムシの培養方法として一般に用いられているのが植え継ぎ培養法である。植え継ぎ法は通常、新しい培養海水に種培養を接種し、2～4日後に収穫し、一部を次の新しい培養の種として用いる。この培養法では、ワムシは接種されてからいくつかの増殖を経て収穫されるが、この増殖ステージによってワムシの状態が異なり、増殖ステージの異なるワムシを仔魚に給餌した場合、飼育成績に大きな影響が及ぶことが明らかにされている（友田ら, 2004, 2006）。したがって、良い状態のワムシを継続して仔魚に与えることが安定した種苗生産に繋がると考えられる。

この20年間で日本栽培漁業協会能登島事業場を中心として開発された粗放連続培養法（以下連培法）は、ケモスタット方式を採用したワムシ培養法であり、定量の連続した給水・給餌により、安定したワムシ培養を実現している。安定した条件下で安定した質のワムシ生産は、仔魚飼育の安定に繋がるが、植え継ぎ法で培養されたワムシと連培法のものを比較した事例はない。本研究では植

え継ぎ法と連培法のワムシの違いについて、生物学的特性と一次培養後に行う栄養強化の成績によって比較した。

【培養と実験の方法】 植え継ぎ法は 500L アルテミア孵化槽を用意し、60%海水 500L を注入した後、ワムシを 800 個体 /mL になるように接種し、48 時間後に収穫した。餌料として市販濃縮淡水クロレラを用い、2 万細胞 /個体 /日となるように添加した。水温は 25 °C とした。連培法は 500L アルテミア孵化槽を 2 面用意し、1 面に 60%海水 500L を注入し、初期収容密度 1,000 個体 /mL となるようにワムシを接種し、同時に淡水クロレラを 2,000 万細胞 /mL となるように添加した。この水槽（以下培養槽）に、60%換水となるように 60%海水を 300L /日（210mL/分）となるように給水し、淡水クロレラは 3.3L/日（2.3mL/分、344 億細胞 /分）となるように添加した。もう 1 面は培養槽からオーバーフローした培養水を受け取る水槽とした（以下収穫槽）。水温は両水槽とも 25 °C とした。

実験では、一次培養直後のワムシ個体を用いて生物学的特性（遊泳速度、増殖特性、寿命、無給餌生残時間、産仔数）を調べた。遊泳速度と増殖特性については、培養から直接取り出した個体を用い、寿命、無給餌生残時間、産仔数については、培養から取り出した携卵個体から卵を採取し、孵化した直後の個体を用いた。植え継ぎ法からは植え継ぎ 1 時間後、24 時間後、48 時間後の個体を用いた。連培法からは、各水槽から取り出した個体を用いた。

一次培養後、以下の処理によって二次培養を実施した；1) 無給餌（24 時間）、2) 淡水クロレラ添加（2,400 万細胞 /mL、24 時間）、3) *Nannochloropsis oculata* 添加（6,000 万細胞 /mL、24 時間）、4) 市販栄養強化剤（0.25g /L、8 時間）。二次培養後のワムシの脂肪酸組成について調べるために、Folch 法で脂質を抽出した後、ガスクロマトグラフィーにより脂肪酸組成分析を行った。対照として一次培養直後のワムシの脂肪酸組成も分析した。

【結果】 一次培養直後のワムシの生物学的特性は、一次培養の処理間では、有意な差はなかった。

二次培養後の脂肪酸組成分析は、対照区と無給餌区、クロレラ添加区で *Nannochloropsis oculata* 添加区ではアラキドン酸（20:4n6）と EPA（20:5n3）が強化されており、連培法で培養されたワムシから多く検出される傾向にあった（表 4）。また EPA については植え継ぎ 24 時間後のワムシから連培法のワムシに次ぐ量が検出された（表 4）。市販栄養強化剤添加区ではアラキドン酸、EPA、DHA（22:6n3）が強化されており、連培法及び植え継ぎ 24 時間後のワムシから、より多くの量が検出された（表 5）。

以上の結果から、生物学的特性には現れなかったものの、ワムシの増殖ステージによってワムシの状態が異なり、これにより二次培養すなわち栄養強化の効率が左右されることが示唆された。

【参考文献】

友田努・小磯雅彦・桑田博・陳昭能・竹内俊郎（2004）増殖ステージが異なるシオミズツボワムシのマダイ仔魚に対する餌料価値 日水誌, 70, 573-582.

友田努・小磯雅彦・桑田博・陳昭能・竹内俊郎（2005）増殖ステージが異なる
シオミズツボワムシのヒラメ仔魚に対する餌料価値 日水誌, 71, 555-562.

表1. 一次培養直後（対照区）のワムシの乾燥重量1g中の脂肪酸組成（mg）
各数値は平均±標準偏差（n=3）
アルファベットは一次培養条件間での統計学的検定の結果を表す
（Tukey-Kramer's test, a > b, p < 0.05）

脂肪酸	植え継ぎ培養			粗放連続培養	
	1h後	24h後	48h後	培養槽	収穫槽
14:0	0.99±0.30	1.52±0.86	0.94±0.20	1.25±0.24	1.00±0.13
16:0	6.94 ^a ±1.74	11.79 ^a ±1.15	6.88 ^b ±1.06	13.14 ^a ±0.57	12.91 ^a ±1.10
18:0	1.65 ^{ab} ±0.34	2.01 ^{ab} ±0.99	1.49 ^b ±0.29	2.82 ^a ±0.08	2.75 ^{ab} ±0.19
18:1 n-9	0.63±0.56	1.01±0.53	0.48±0.09	0.81±0.08	0.85±0.13
20:4 n-6	0.06±0.10	0.31±0.36	0.30±0.26	0.21±0.19	0.23±0.21
20:5 n-3	0.00±0.00	0.02±0.03	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
22:5 n-6	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
22:6 n-3	0.00±0.00	0.00±0.00	0.01±0.01	0.04±0.07	0.39±0.36

表3. 一次培養後淡水クロレラ添加処理（2,400万細胞/mL、24時間）のワムシの乾燥重量1g中の脂肪酸組成（mg）
各数値は平均±標準偏差（n=3）
アルファベットは一次培養条件間での統計学的検定の結果を表す
（Tukey-Kramer's test, a > b, p < 0.05）

脂肪酸	植え継ぎ培養			粗放連続培養	
	1h後	24h後	48h後	培養槽	収穫槽
14:0	0.72±0.30	0.68±0.13	0.99±0.35	0.57±0.28	0.95±0.38
16:0	4.67±2.77	6.13±2.94	6.79±3.71	4.93±1.56	5.86±0.86
18:0	1.11±0.80	1.04±0.65	2.18±0.97	1.22±0.30	1.27±0.42
18:1 n-9	1.03±0.02	0.73±0.33	1.31±1.70	0.68±0.19	0.83±0.67
20:4 n-6	0.41 ^a ±0.11	0.07 ^{ab} ±0.07	0.13 ^{ab} ±0.22	0.10 ^{ab} ±0.17	0.00 ^b ±0.00
20:5 n-3	0.00±0.00	0.03±0.03	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
22:5 n-6	0.19±0.29	0.02±0.03	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
22:6 n-3	0.05±0.09	0.06±0.05	0.05±0.09	0.00±0.00	0.00±0.00

表5. 一次培養後市販栄養強化剤添加処理（0.25g/L、8時間）のワムシの乾燥重量1g中の脂肪酸組成（mg）
各数値は平均±標準偏差（n=3）
アルファベットは一次培養条件間での統計学的検定の結果を表す
（Tukey-Kramer's test, a > b > c, p < 0.05）

脂肪酸	植え継ぎ培養			粗放連続培養	
	1h後	24h後	48h後	培養槽	収穫槽
14:0	1.22 ^a ±0.20	1.86 ^a ±0.27	1.23 ^b ±0.18	1.65 ^{ab} ±0.11	2.01 ^{ab} ±0.41
16:0	15.72±7.01	17.67±2.33	11.18±1.67	13.73±1.69	17.94±3.34
18:0	3.85 ^{ab} ±1.19	5.43 ^a ±0.72	2.63 ^b ±0.44	3.48 ^{ab} ±0.84	4.28 ^{ab} ±0.82
18:1 n-9	6.77 ^a ±1.73	10.33 ^a ±0.66	5.30 ^b ±0.78	7.71 ^{ab} ±0.68	8.20 ^{ab} ±1.47
20:4 n-6	0.84 ^a ±0.19	1.45 ^a ±0.11	0.79 ^b ±0.23	1.13 ^{ab} ±0.19	1.33 ^a ±0.19
20:5 n-3	2.73 ^a ±0.48	4.46 ^a ±0.18	2.49 ^b ±0.41	3.38 ^{ab} ±0.34	4.00 ^a ±0.72
22:5 n-6	0.69±0.27	1.06±0.09	0.55±0.24	0.85±0.11	0.90±0.17
22:6 n-3	4.66 ^a ±0.57	8.52 ^a ±0.44	4.50 ^b ±0.91	6.31 ^a ±0.64	7.31 ^{ab} ±1.15

表2. 一次培養後無給餌処理（24時間）のワムシの乾燥重量1g中の脂肪酸組成（mg）
各数値は平均±標準偏差（n=3）
アルファベットは一次培養条件間での統計学的検定の結果を表す
（Tukey-Kramer's test, a > b, p < 0.05）

脂肪酸	植え継ぎ培養			粗放連続培養	
	1h後	24h後	48h後	培養槽	収穫槽
14:0	0.45 ^{ab} ±0.07	0.48 ^{ab} ±0.06	0.36 ^b ±0.05	0.61 ^{ab} ±0.11	0.83 ^a ±0.35
16:0	3.24±0.54	3.17±0.04	2.65±0.27	4.04±0.61	6.32±2.93
18:0	0.98 ^{ab} ±0.04	0.94 ^a ±0.11	1.02 ^{ab} ±0.03	1.29 ^{ab} ±0.51	1.85 ^a ±0.52
18:1 n-9	0.32±0.09	0.09±0.16	0.23±0.01	0.93±0.46	1.28±1.09
20:4 n-6	0.15±0.18	0.15±0.17	0.40±0.07	0.17±0.30	0.50±0.11
20:5 n-3	0.06±0.10	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
22:5 n-6	0.03±0.03	0.16±0.22	0.00±0.00	0.00±0.00	0.22±0.39
22:6 n-3	0.04±0.05	0.04±0.07	0.08±0.13	0.04±0.08	0.37±0.58

表4. 一次培養後*Nannochloropsis oculata*添加処理（6,000万細胞/mL、24時間）のワムシの乾燥重量1g中の脂肪酸組成（mg）
各数値は平均±標準偏差（n=3）
アルファベットは一次培養条件間での統計学的検定の結果を表す
（Tukey-Kramer's test, a > b > c, p < 0.05）

脂肪酸	植え継ぎ培養			粗放連続培養	
	1h後	24h後	48h後	培養槽	収穫槽
14:0	1.17 ^a ±0.32	1.24 ^{ab} ±0.16	1.16 ^b ±0.10	1.96 ^{ab} ±0.14	2.34 ^a ±0.84
16:0	6.87 ^{ab} ±0.44	5.94 ^a ±0.25	5.83 ^a ±0.91	9.86 ^a ±1.66	10.37 ^a ±2.38
18:0	1.77 ^a ±0.22	0.74 ^b ±0.11	1.12 ^{ab} ±0.45	1.92 ^a ±0.55	1.60 ^{ab} ±0.14
18:1 n-9	1.11 ^a ±0.34	1.02 ^a ±0.08	1.01 ^b ±0.03	1.67 ^a ±0.07	1.76 ^a ±0.22
20:4 n-6	1.29 ^{ab} ±0.18	1.01 ^b ±0.14	1.19 ^{ab} ±0.36	1.91 ^a ±0.42	1.81 ^a ±0.24
20:5 n-3	2.91 ^a ±0.22	5.38 ^{ab} ±0.48	4.62 ^{bc} ±0.21	8.03 ^a ±0.57	9.21 ^a ±1.20
22:5 n-6	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.04±0.07	0.18±0.32
22:6 n-3	0.29±0.27	0.00±0.00	0.05±0.09	0.22±0.18	0.26±0.22

4.2 ワムシ中のビタミンA含量がマダイの健苗性に及ぼす影響

°井本達宏・鈴木久英・小谷知也（福山大生命工）・林雅弘（宮崎大農）
・高崎全弘（株）ヨンキュウ）・伏見浩（福山大生命工）

目的

マダイは、養殖対象魚種の中で古くから研究されてきた魚種である。マダイの
種苗生産において形態異常魚の発生が大きな問題となっている。したがって、